Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Die Feinstruktur und Funktion des Dottersackepithels von Rattenembryonen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Gisela Büttner geb. Kraatz

Berlin

1973

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor : Professor Dr. med. Willy Schwarz

Die Feinstruktur und Funktion des Dottersackepithels von Rattenembryonen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Gisela Büttner geb. Kraatz

Berlin

Referent: Prof. Dr. med. Hans Joachim M e r k e r

Korreferent: Prof. Dr. med. Willy S c h w a r z

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 29. März 1973

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methode	9
Befunde	12
Diskussion	22
Zusammenfassung	30
Literatur	32
Bildmaterial	42

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0042

Einleitung

Die Säugetiere machen während der intrauterinen Entwicklung tiefgreifende Veränderungen ihres Ernährungsmechanismus durch. Beim Menschen kann man im wesentlichen zwei Phasen unterscheiden (Starck, 1965):

1. die histiotrophe Phase:
   Während dieser frühen Phase wird die Ernährung des Keimes allein durch eine Gewebsflüssigkeit ermöglicht. Weder bei der Mutter noch im Embryo sind dafür besondere Anordnungen oder Systeme von Blutgefäßen vorhanden (Beck, 1970).

2. die hämotrophe Phase:
   In dieser Zeit ist ein besonderes, mütterliches Blutgefäßsystem entwickelt, das ein direktes Umspülen embryonalen Gewebes möglich macht. Gleichzeitig hat aber der Embryo ebenfalls ein besonderes Blutgefäßsystem entwickelt, das den Stoffaustausch mit dem mütterlichen Blut erleichtert und die Verteilung dieser Substanzen im embryonalen Gewebe übernimmt. Das morphologische Substrat dieser Mutter-Keim-Beziehung ist die Placenta.

Schon die vergleichende Placentaforschung hat aber zeigen können, daß der Aufbau der Placenta, besonders der Aufbau der Mutter-Keim-Schranke, bei den einzelnen Spezies außerordentlich stark wechselt (Huber, 1915; Starck, 1965). Ausgesprochene Speziesunterschiede lassen sich auch bei allen anderen Mechanismen und Strukturen nach-

weisen, die mit der Ernährung des Embryos in Zusammenhang stehen. So unterscheiden sich die - in fast allen embryologisch und teratologisch arbeitenden Laboratorien - verwendeten Ratten und Mäuse in wesentlichen Punkten von den relativ gut bekannten Verhältnissen beim Menschen (King and Enders, 1970 b). Die genaue Kenntnis der Ernährungsform ist aber unbedingt erforderlich, um die Konzentration an Arzneimitteln und teratogen wirksamen Substanzen, ihre Verteilung im mütterlichen und embryonalen Organismus und ihr kinetisches Verhalten genau beurteilen zu können (Nebel, and Hamburgh, 1966; Carpenter, 1969; Neubert et al., 1970; Andersen, 1971). Im lichtmikroskopischen Bereich sind die morphologischen Grundlagen der Mutter-Keim-Beziehung bei Ratte und Maus in groben Zügen bekannt (Keibel, 1937). Dabei stellen sich in der Tat erstaunliche Unterschiede zum Menschen heraus (Langman, 1970).

Die Entwicklung beginnt bei diesen Tieren mit einem eigenartigen Verhalten der Trophoblastenschicht, die in der Blastocyste noch kontinuierlich und einschichtig ist. Sehr bald nach der Implantation (Enders and Schlafke, 1967; Finn and Mc Laren, 1967; Potts, 1968) wandern die meisten Trophoblastzellen in das mütterliche Deciduagewebe der Umgebung ein und bilden sich hier wahrscheinlich zu den Trophoblast-Riesenzellen um. Damit existiert zwischen Mutter und Keim keine kontinuierliche Schicht mehr. Kurz vorher hatte sich aber vom Embryoblasten aus eine locker verteilte Zellschicht unter die Trophobla-

sten geschoben (Jolie, 1968; Merker und Villegas, 1970). Zwischen diesen parietalen Dottersackepithelien und den einzelnen, noch vorhandenen Trophoblastzellen bildet sich nun die Reichertsche Membran (Reinius, 1965). Es handelt sich um ein basalmembranähnliches Gebilde, das mit großer Wahrscheinlichkeit von den parietalen Dottersackepithelien gebildet wird (Birbeck and Mercer, 1961; Midgley and Sriram, 1963; Pierce, 1966; Gould, 1968;, Vollrath, 1968; Merker und Villegas, 1970). Nach dem Abwandern der Trophoblastzellen stellt diese Schicht die äußere Grenze der Keimanlage gegenüber mütterlichem Gewebe dar. Neben mechanischen Funktionen kommt ihr noch die Funktion eines groben Porenfilters zu. Flüssigkeit und auch großmolekulare Substanzen, z. B. hochmolekulare Antikörper durchdringen sie frei, Zellen dagegen werden zurückgehalten. Die Lokalisation der Reichertschen Membran als Grenze des Embryos zum mütterlichen Gewebe hin, bleibt noch relativ lange erhalten. Am Tag 14-16 kommt es dann zur Rupturierung und Auflösung (Wislocki and Padykula, 1953).

Während dieser Entwicklung sind im Embryoblasten tiefgreifende morphogenetische Vorgänge abgelaufen (Sobotta, 1903, 1911). Aus dem ungeordneten Zellhaufen gliedert sich zunächst eine oberflächliche epithelartige Schicht ab, das sog. viscerale Dottersackentoderm bzw. Dottersackepithel. Diese Zellschicht stellt eine funktionell außerordentlich wichtige Hülle des sich entwickelnden Keimes dar (Everett, 1933; Dempsey, 1953; Deren et al., 1966). Bis zum Ende der Schwangerschaft ist sie von der

azellulären Reichertschen Membran abgesehen die am weitesten peripher liegende, kontinuierliche Zellschicht um den Keim.

Im Inneren des Embryoblasten oder "Trägers" bildet sich jetzt zunächst eine (Archamnionhöhle) dann drei Höhlen (Amnion-, Exocoelom-, Ektoplacentarhöhle) (Keibel, 1937). Im Bereich der Spitze des Trägers, der sich aus dem Embryoblasten entwickelt und diese drei Höhlen enthält, finden wir innen die Amnionhöhle, die von einem einschichtigen Epithel ausgekleidet ist und als äußeren Überzug die bereits besprochene viscerale Entodermschicht. Im eigentlichen Spitzenbereich stellt das Amnionepithel das Ektoderm und das Dottersackentoderm das eigentliche embryonale Entoderm dar. Vereinfacht ausgedrückt, liegt also das Entoderm außen, das Ektoderm innen. Durch die sogenannte Keimblattumkehr schiebt sich die Spitze mit dem Entoderm in die Amnionhöhle hinein und stülpt dabei das Ektoderm ebenfalls in dieser Richtung um. Die Einstülpung des Entoderm geht soweit, daß sich die lateralen Falten wieder berühren und zusammenfließen. Dadurch ist das Entoderm in die Tiefe versenkt und die viscerale Dottersackentodermschicht schließt sich außen wieder kontinuierlich über der Embryonalanlage. Von diesem Zeitpunkt an, muß also jede Substanz für den Embryo entweder durch das viscerale Dottersackepithel oder durch die Trophoblastenschichten im Bereich der Placentaanlage an der Basis des Trägers (Asai, 1914; Wislocki, 1920, 1921; Everett, 1933, 1935; Padykula et al., 1966).

Durch das explosionsartige Wachsen des Keimes und der extraembryonalen Bezirke, werden jetzt Hilfsmechanismen zum Transport der an- und abflutenden Substanzen notwendig. Die Diffusion allein, die bisher das wesentliche Element der Versorgung darstellte, genügt nicht mehr. Zu diesem Zweck entwickelt sich zunächst etwa am Tag 10 bei der Ratte unter dem visceralen Dottersackepithel ein Blutkreislauf, der über den Haftstiel Beziehung zum embryonalen Kreislauf gewinnt. Erst am Tage 12 gewinnt die Placenta über auswachsende Allantoisgefäße Anschluß an den Embryo. Aber auch bis zur Geburt stellt das viscerale Dottersackepithel nach Platzen der Reichertschen Membran die äußere Schicht des Embryos dar und zeigt morphologische Zeichen einer Resorptionsaktivität (Krzyzowska, Gruca und Schiebler, 1967).

Diese kurze Schilderung der morphologisch sichtbaren Ereignisse an der Mutter-Keim-Grenze bei Ratten und Mäusen, weist auf die Bedeutung des visceralen Dottersackepithels zur Ernährung des Keimes hin. Am Tag 5-10 (Ratte), erreicht die histiotrophe Flüssigkeit frei die Reichertsche Membran und nach grober Filterung als nächste Station das viscerale Dottersackepithel. Flüssigkeiten, Ionen und niedermolekulare Substanzen kommen also während dieser Zeit sofort an den Keim heran, großmolekulare Substanzen, besonders Eiweiß werden dagegen phagocytiert, abgebaut und erst dann in geeigneter Form dem Embryo zur Verfügung gestellt (Lehner, 1914; Wislocki, 1920, 1921; Litwer, 1928; Brambell and Hemmings, 1954; Luse, 1957; Hemmings, 1958; Lambson,

1966; King and Enders, 1970; Merker und Villegas, 1970; Jollie and Triche, 1971).

Diese zentrale kontrollierende und aufbereitende Stellung des visceralen Dottersackepithels wird besonders dann wichtig, wenn die Keimblattumkehr erfolgt ist und das viscerale Dottersackblatt sich wieder kontinuierlich über der Embryonalanlage geschlossen und eine eigene Blutversorgung entwickelt hat. Diese Situation findet sich bei der Ratte am Tag 10-12. Zu diesem Zeitpunkt beruht also die Existenz des Embryos auf einer ungehinderten Funktion des Dottersackepithels. Diese Vorstellung wird durch experimentelle Untersuchungen voll bestätigt, die zeigen konnten, daß eine Hemmung der Phagocytose- und der lysosomalen Aktivität im Dottersackepithel in einem hohen Prozentsatz zu Mißbildungen und Resorptionen führt (Wilson et al., 1963; Beck et al., 1967; Lloyd and Beck, 1969; Neubert et al., 1970). Die Empfindlichkeit auf diese Art Schädigung nimmt schlagartig am Tag 12 ab, wenn die Placenta ihre Funktion aufnimmt. Das viscerale Dottersackepithel bleibt aber auch dann noch, besonders nach der Rupturierung der Reichertschen Membran während der gesamten Schwangerschaft als äußere Hülle erhalten und zeigt auch noch nach lichtmikroskopischen und vorläufigen elektronenmikroskopischen Befunden Zeichen einer Funktion.

Auf der Grundlage dieser bisher erarbeiteten Erkenntnisse über Entwicklung, Bau und Funktion des Dottersackepithels lassen sich einige noch nicht geklärte und noch umstrittene Fragen formulieren. Da ist zunächst das Pro-

blem der interzellulären Kontakte zwischen den visceralen Dottersackepithelzellen (Farquhar and Palade, 1963; Villegas und Merker, 1970).

Wenn eine kontinuierliche, kontrollierende Zellschicht zwischen Mutter und Keim vorhanden ist, wie im Bereich des Trophoblasten der Placenta, dann ist diese Barrierenfunktion nur sinnvoll, wenn eine ähnliche Kontinuität und Abdichtung auch im Bereich des Dottersackepithels vorhanden ist, das die übrigen Teile der Keimanlage umhüllt. In Analogie zu vielen anderen abdichtenden Epithelverbänden kann also postuliert werden, daß auch hier spezielle Kontaktstellen, sogenannte zonulae occludentes (tight junctions) vorhanden sind. Alle Substanzen bis auf Wasser und kleinere Ionen müssen dann transzellulär transportiert werden. Ein entsprechender, morphologisch faßbarer Apparat, z. B. starke Vesikulationen sind dazu erforderlich. Über solche Vesikulationsvorgänge wird auch Eiweiß in die Zelle aufgenommen. Man kann annehmen, daß diese Phagosomen in Analogie zu den Vorgängen in anderen phagocytierenden Zellen durch Beimischung von lysosomalen Enzymen zu Phagolysosomen werden, deren Inhalt zu brauchbaren Bruchstücken verarbeitet wird (de Duve, 1959, 1963, 1964; Merker, 1964, 1965; de Duve and Wattiaux, 1966; Spors, 1967). Andererseits weisen einige Befunde darauf hin, daß eine Permeation sehr großer Moleküle (z. B. Antikörper) durch das Epithel ohne Abbau möglich ist. Eine Stellungnahme zu diesem Problem wäre möglich, wenn der Weg solcher Makromoleküle verfolgt werden könnte.

Wir haben deshalb versucht, durch Nachweis permeierender, elektronendichter Substanzen (Thorium, Ferritin) und fluoreszierender Antikörper Befunde zu erhalten, die eine Deutung auf diesem Gebiet ermöglichen. Nicht zuletzt soll die Morphologie des visceralen Dottersackepithels auch am Ende der Schwangerschaft berücksichtigt werden. Ein auch elektronenmikroskopisch voll funktionstüchtiges Dottersackepithel würde interessante Hinweise auf den Ernährungsmodus und die Funktion der Mutter-Keim-Barriere geben. Zum Verständnis der Ernährung des Keimes und zur Deutung experimenteller und teratologischer Versuche ist zweifellos die Kenntnis der Feinstruktur der visceralen Dottersackepithelzellen und eine entsprechende funktionelle Deutung außerordentlich wichtig.

Material und Methoden

Als Untersuchungsmaterial dienten uns Rattenembryonen eines Wistar-Stammes (Paderborn, F W 69). Die Muttertiere wurden bei verschobenem Tag-Nachtrhythmus in temperatur- und feuchtigkeitsgeregeltem Milieu bei Standardernährung (Altromin) gehalten.

Nach vorheriger Abstrichkontrolle wurden die Weibchen mit den Männchen in der Zeit zwischen 07.30 und 09.30 Uhr gepaart. Da bereits um 08.00 Uhr etwa 80 % der Abstriche spermienpositiv sind, setzt man den Beginn der Schwangerschaft zu diesem Zeitpunkt fest. Die folgenden 24 Stunden sind Tag 0, dann folgt Tag 1 etc. Zur genaueren zeitlichen Unterteilung werden die Stunden ab 08.00 Uhr des jeweiligen Tages gezählt, z. B. Tag 1 + 3 Std. bedeutet 11.00 Uhr des 2. Tages oder 27 Stunden nach der Befruchtung. Als Material stand Dottersackepithel aus unbehandelten Tieren von Tag 8 bis Tag 20 zur Verfügung. Darüber hinaus injizierten wir Muttertieren von Tag 9 + 2, Tag 11 + 2 und Tag 14 + 2 je 0,5 ml Thorotrast in die Schwanzvene. Einer zweiten Gruppe (Tag 9 + 2, Tag 11 + 4) injizierten wir je 0,5 ml Ferritin i.v.

Nach zwei Stunden wurde in Äthernarkose der schwangere Uterus herausgenommen und in 2,8 % Glutaraldehyd präpariert. Bei den 9 Tage alten Tieren entnahmen wir den von Decidua umgebenen Embryo in toto. Bei den älteren Tieren konnte der Keim unter dem Lupenmikroskop aus den fetalen und mütterlichen Hüllen herausgelöst werden. Das Material wurde in Karnovski-Lösung (3 % Glutaraldehyd, 3 % Pa-

raformaldehyd in 0,1 m Cacodylatpuffer: pH 7,2) fixiert, anschließend in 0,2 m Cacodylatpuffer gewaschen und in 1 % O_sO_4-Cacodylatpuffer nachfixiert.

Die Entwässerung erfolgte in der aufsteigenden Acetonreihe, die Einbettung in der aufsteigenden Mikropal-Acetonreihe. Mikropal hat sich als Einbettungsmaterial ausgezeichnet bewährt, da es bei genügender Härte plastisch ist und gleichmäßig polymerisiert.
Um sich an dem Objekt zu orientieren, wurden von dem eingebetteten Material mit dem Porter-Blum-Mikrotom Semidickschnitte von 0,5-1,0 /u Dicke hergestellt, mit wässriger Giemsalösung bei etwa 50 ° gefärbt und unter dem Lichtmikroskop beurteilt.
War die gewünschte Schnittebene mit dieser Methode gefunden, konnten mit dem LKB-Mikrotom Dünnschnitte angefertigt werden, die mit Bleiacetat und Uranylacetat kontrastiert wurden.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen erfolgten mit dem Siemens-Elmiskop I a und -101 bei einer Primärvergrößerung von 1.000-30.000, einer Strahlspannung von 80 kV, einer Kondensorblende von 200 /u und einer Objektivaperturblende von 30 /u. Bei der Auswertung wurden 3 1/2-fache Papiervergrößerungen verwendet.

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung mit dem Fluoreszenzmikroskop injizierten wir darüber hinaus noch fluoreszierende Antikörper (SwAHu/IgD und SwAHu/IgG) am Tag 9 + 6; 11 + 3 1/2; 11 + 4; 14 + 4 1/2). Etwa 30 Minuten nach Injektion wurde der Uterus entnommen, die Gesamt-

keimanlage ohne oder nach Formolfixierung im Kryostaten geschnitten und die Schnitte wurden dann im Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

Befunde

Schon sehr kurze Zeit nach der Implantation bilden sich die den Embryoblasten umhüllenden Zellen in ein einschichtiges, kubisches Epithel um: das viscerale Dottersackepithel. Die Differenzierung zu typischen Dottersackepithelien, deren Feinstruktur im folgenden beschrieben werden soll, muß sehr schnell gehen, da es uns niemals gelang, diesen Differenzierungsprozeß, d. h. Übergangsformen elektronenmikroskopisch zu erfassen. Ist diese Dottersackepithelschicht gebildet, schieben sich sofort Zellen entlang der inneren Trophoblastenschicht vor. Hier bilden sie dann, wie andere Untersuchungen bereits zeigen konnten, die Reichertsche Membran. Die viscerale Dottersackepithelzelle ist bereits zu diesem frühen Zeitpunkt durch verschiedene typische morphologische Kennzeichen deutlich charakterisiert: Sie ist polar gegliedert, d. h. basal anders strukturiert als apikal. Basal sitzt sie einer zarten und aufgelockerten Basalmembran glatt auf, während sie apikal einen Mikrovillibesatz trägt. Daneben enthält sie zahlreiche elektronendichte Einschlüsse und der Kern zeigt tiefe Einbuchtungen. Insgesamt ist die Zellform überwiegend kubisch, wenn auch ab und zu flache und zylindrische Formen beobachtet werden können.

Zellmembranen:

Die lateralen Zellmembranen verlaufen auf weiten Strekken in einem Abstand von etwa 200 Å parallel und relativ geradlinig nebeneinander her. Es können jedoch auch angedeutete Verzahnungen und Fortsätze beobachtet werden.

Im Bereich der Verzahnungen laufen die Membranen benachbarter Zellen ebenfalls in einem Abstand von 200 Å parallel zueinander. Außerdem kommen vereinzelte Erweiterungen der Interzellularräume vor. Im Bereich der stummelförmigen Fortsätze, die höchstens 0,1 µ dick und 1 µ lang werden, finden sich jedoch immer diese Erweiterungen des Interzellularraumes zwischen zwei Zellen. Die basale Zellmembran verläuft entweder glatt oder zeigt kleine wellenförmige Unregelmäßigkeiten. Sowohl an der lateralen als auch an der basalen Zellmembran kommen nur sehr vereinzelt Vesikulationsvorgänge vor.

Kontakte:

Während im mittleren und basalen Zellbereich die visceralen Dottersackepithelzellen nur durch einen etwa 200 Å breiten Spalt oder aber über aufgeweitete Interzellularräume Kontakt miteinander haben, kommen im apikalen Bereich spezialisierte Kontaktformen vor. Weit apikal, wo sich die Membranen benachbarter Zellen zuerst treffen, umgibt in einer Breite von 0,5-2 µ eine besondere Kontaktzone die Zellen kontinuierlich. An diesen Stellen nähern sich die Zellmembranen mit ihren äußeren Lamellen unter Verengung des Interzellularraumes auf weniger als 100 Å. Gleichzeitig verdichtet sich das angrenzende Cytoplasma zu einem etwa 0,3-0,6 µ breiten, dunklen Saum. An manchen Stellen verschwindet der Interzellularspalt völlig und die äußeren Lamellen der Zellmembranen verschmelzen. Bei noch erhaltenem Interzellularspalt sprechen wir von einem "close contact", bei

verschmolzenen Zellmembranen von "zonula occludens, tight junction oder Nexus".

Basalmembran:

Die Basis der Dottersackepithelzellen sitzt einer Basalmembran auf. Am Anfang (Tag 7) ist die Basalmembran noch nicht kontinuierlich nachweisbar.
Zu diesem Zeitpunkt findet man nur einige feinfilamentäre Plaques, die allmählich zusammenfließen. Am Tag 8 ist dann bereits das typische Bild ausgeprägt. Diese Verdichtungszone im interzellulären Raum verläuft in einem Abstand von 200-300 Å, annähernd parallel zur basalen Zellmembran. Bei höherer Vergrößerung besteht sie aus einem feinfilamentären, vernetzten Material. Ihre Dicke ist abhängig von den morphologischen Verhältnissen auf der Seite, die zum Embryo hin liegt. In den frühen Stadien liegen hier undifferenzierte, dicht gepackte Zellen, die zunächst die Archamnionhöhle umhüllen, später dann die verschiedenen anderen Hohlräume (Amnion-, Exocoelom-, Ektoplazentarhöhle). Unter diesen Bedingungen ist die Basalmembran sehr dünn und häufig zwischen den beiden angrenzenden Epithelblättern so eingeklemmt, daß ihre Darstellung schwierig ist. Später dann, wenn sich extraembryonales Mesenchym zwischen die epithelialen Verbände geschoben hat, und sogar Blutgefäße des Dottersackkreislaufs entstanden sind, wird sie etwas dicker (400 Å) und hebt sich immer deutlicher gegen den hellen Interzellularraum des extraembryonalen Mesenchyms ab.

Mikrovilli und Vesikulationen:

Die Mikrovilli, die nach außen, d. h. in Richtung des müt-

terlichen Gewebes und der Reichertschen Membran ausgerichtet sind, zeigen eine sehr wechselnde Form, Dicke und Länge und sind deshalb nicht mit den sehr regelmäßig geformten und angeordneten Mikrovilli z. B. im Darm und in der Niere zu vergleichen.

Die Mikrovilli des visceralen Dottersackepithels können eine Länge von 3 µ und eine Breite von 0,2 µ erreichen. Sie sitzen nicht gleichmäßig dem Zellapex auf, sondern lassen mehr oder weniger große Zwischenräume an der Basis der Mikrovilli frei. In den beschriebenen Zwischenräumen finden sich alle Formen der Membraneinstülpung (Vesikulation). Auffällig ist aber, daß diese dynamischen Vorgänge an der Zellmembran morphologische Besonderheiten aufweisen, die in anderen Zellarten nicht nachzuweisen sind. Zunächst wird an der Oberfläche solcher Zellmembranabschnitte, die sich einzustülpen beginnen, eine etwa 500 Å breite Auflagerung sichtbar, die sich gegen die eigentliche Zellmembran durch eine hellere oder optisch leere Zone von 200-300 Å Dicke absetzt. Sie besteht aus feinen, sehr unregelmäßig verlaufenden Filamenten, die untereinander verfilzt sind. Gleichzeitig verdickt und verdichtet sich die Zellmembran und das anliegende Zytoplasma. Mit zunehmender Einsenkung gelangt das oberflächliche Material in das Zentrum des so entstandenen Bläschens. Schließlich ist ein Hohlraum entstanden, dessen Durchmesser 750-3000 Å beträgt und der im Zentrum dieses feinfilamentäre Material enthält. Nach außen besteht weiterhin die Verdichtung im anliegenden Cytoplasma. Diese Strukturen sehen den in anderen Geweben bereits beschriebenen "coated vesicles" sehr ähnlich.

Apikale Granula:

Neben diesen im elektronenmikroskopischen Bild relativ hellen Vakuolen finden sich im apikalen Zellteil noch zwei deutlich voneinander abgrenzbare Formen von elektronendichten Einschlüssen. Einmal imponieren große, in manchen Fällen sogar kerngroße, also mehrere Mikron große Einschlüsse, die annähernd rund und glatt durch eine typische Membran begrenzt sind und einen homogenen bis feingranulären, elektronendichten Inhalt haben. Daneben kommt eine sehr viel kleinere Population dunkler Einschlüsse vor, die rund, oval, langgestreckt oder hantelförmig und ebenfalls membranbegrenzt ist. Ihre vorwiegende Form dürfte die langgestreckte, hantelförmige sein, während die runde oder ovale aus Schräg- oder Querschnitten resultiert.

Ihre Breite beträgt bis zu 0,1 µ, ihre Länge bis zu 0,5 µ. Zwischen den beiden dunklen Einschlußtypen lassen sich keine Übergangsformen darstellen. Zwischen den helleren, durch Vesikulationen entstandenen Vakuolen und den großen, dunklen Einschlüssen sind jedoch vereinzelt solche Übergangsstadien nachzuweisen.

Andere Zellorganellen:

Im apikalen Zellteil kommen darüber hinaus noch plumpovale Mitochondrien mit quergestellten Cristae und wenig Matrix, freie Ribosomen in Polysomenform und einige kurze Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Reticulums vor. Direkt supranukleär ist häufig ein mittelgroßer Golgi-Apparat lokalisiert, der aus einigen kurzen, parallel ver-

laufenden und membranbegrenzten Hohlräumen, sowie einem Hof aus Vesikeln und elektronendichten Granula besteht. In einigen Fällen lassen sich auch die oben beschriebenen kleineren elektronendichten, häufig hantelförmigen Granula hier nachweisen. Möglicherweise existieren auch Übergänge zwischen Golgi-Granula und diesen Einschlüssen.

Nucleus:

Der Kern selbst ist relativ groß und charakterisiert durch einen sehr unregelmäßigen Kernmembranverlauf. Wir finden alle Übergänge von leicht undulierenden Membranabschnitten bis hin zu tiefen finger- und spaltförmigen Einstülpungen. Die Strukturen des Karyoplasmas sind relativ locker verteilt ohne größere Verdichtungszonen. Der Nukleolus zeigt typische embryonale Züge: Er besteht aus bandförmigen, feinfilamentären granulären Verdichtungen, die sich umeinander schlingen und helleren Räumen, die sogenannte Nukleolusvakuolen zwischen sich fassen. Dadurch bekommt der Nukleolus ein wabiges, aufgelockertes Aussehen. Er kann beträchtliche Teile des Kernausschnittes einnehmen.
In manchen elektronenmikroskopischen Bildern besteht die Schnittebene des Kernes zu einem Drittel aus Nukleolusmaterial.

Basaler Zellteil:

Im basalen Zellteil und neben dem Kern überwiegen die engen Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Reticulums. Daneben finden sich hier auch noch viele freie Ribosomen

in Polysomenform und einige Mitochondrien, die nur wenige, häufig auch unregelmäßig angeordnete Cristae und nur wenig Matrix enthalten. Einige Vesikel und kleinere Granula kommen vor.

Embryonales Entoderm:

Diese Beschreibung gilt für die visceralen Dottersackepithelien in fast allen Bereichen. An der Spitze des Trägers jedoch, wie man den sich aus dem Embryoblasten entwickelnden Zellzapfen nennt, d. h. dort, wo sich später der eigentliche Embryo entwickelt, finden wir einen anderen Zelltyp. Er geht kontinuierlich aus dem typischen Dottersackepithel hervor. Diese Zellen an der Spitze sind nicht mehr kubisch sondern flach, in extremen Fällen sogar endothelähnlich. Ein Bürstenbesatz und die Vesikulation der oberflächlichen Zellmembran fehlen ebenso wie die dichten Granula unterschiedlicher Größe und Form. An der Oberfläche finden sich nur noch wenige stummelförmige Fortsätze. Im Cytoplasma überwiegen die freien Ribosomen; einige Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Reticulums und kleine Mitochondrien kommen vor. Die laterale Zellmembran verzahnt sich mit der Membran der Nachbarzelle und weist einige "tight junctions" und "close contacts" auf. Die basale Zellmembran ist relativ glatt. Die Morphologie dieser Zellen, aus denen später durch Einstülpung das Entodermrohr des Embryos wird, ändert sich jetzt bis zum Einstülpungsvorgang nicht mehr. Sie soll deshalb hier nicht weiter berücksichtigt werden.

Zeitlicher Verlauf:

Das elektronenmiskroskopische Bild der typischen visceralen Dottersackepithelien bleibt für den Rest der Schwangerschaft im Prinzip erhalten. Es verändern sich einige Einzelheiten, die etwa folgendermaßen charakterisiert werden können: Bis zum Tag 10 nimmt die Zahl der Mikrovilli im apikalen Bereich der Zelle weiter zu. Wir finden hier auf der Fläche von 1 μ^2 bis zu 25 Mikrovilli. Die Zunahme der Zahl von Mikrovilli wird erreicht, einmal durch eine Verdünnung, zum anderen durch ihre dichtere Packung. Gleichzeitig nehmen auch Zahl und Größe der großen elektronendichten Einschlüsse zu. Die übrigen Zellbestandteile zeigen keine signifikanten Abweichungen vom bisher beschriebenen Bild. Nach dem 12. Tag wird die Form der Mikrovilli in dem visceralen Dottersackepithel wieder etwas unregelmäßig. Ihre Packungsdichte ist nicht mehr geordnet und sie zeigen einzelne Auftreibungen und Abschnürungen. Die Zahl und Größe der elektronendichten Granula hat abgenommen. Als weiteres Kennzeichen könnte noch die ausgeprägte Unregelmäßigkeit des Kernmembranverlaufes angeführt werden. Sonst lassen sich keine prinzipiellen Veränderungen gegenüber dem bisher beschriebenen Bild darstellen.

Dottersackmesenchym:

Tiefgreifende Veränderungen spielen sich dagegen im subepithelialen extraembryonalen Mesoderm ab (Dottersackmesenchym). Hier haben sich zwischen Tag 8 und 10 um einzelne Blutinseln endothelähnliche Zellen gebildet und relativ weite Hohlräume entstehen lassen. Am Tag 10

gewinnen sie Anschluß an den embryonalen Kreislauf und es funktioniert jetzt der sogenannte Dottersackkreislauf. Zwischen embryonalem Blutstrom und basaler Dottersackepithelzellmembran liegen nun eine Basalmembran, ein embryonales Interstitium mit Zellen und Interzellularräumen und die Endothelzellen der Dottersackkapillaren. Der Raum zwischen äußerer Endothel- und basaler Epithelzellmembran beträgt streckenweise nur 500 Å. Die Endothelzelle selbst ist auf weiten Strecken dünn (500-1000 Å) und weist Poren und Lükken auf. An den Berührungspunkten der Endothelzellen lassen sich "tight junctions" und "close contacts" nachweisen. Einzelne Endothelabschnitte sind jedoch breit und enthalten zahlreiche Zellorganellen. Auch diese Epithel-extraembryonale Mesodermgrenze bleibt bis ans Ende der Schwangerschaft erhalten.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Dottersackepithels nach Injektion von Thorotrast und Ferritin

Werden 2 Stunden vor der Fixation elektronendichte Substanzen gespritzt (sog. Marker-Moleküle), so lassen sie sich elektronenmikroskopisch im visceralen Dottersackepithel nachweisen. Aus einer Fülle vorhergehender Untersuchungen hat sich ergeben, daß Thorium und Ferritin aufgrund der Kleinheit der Einzelpartikel und ihrer Elektronendichte dafür besonders geeignet sind. Sie stellen sich als etwa 100 Å große Granula dar, die aber häufig zu größeren Einheiten aggregiert sind.

Die Granula lassen sich in unserem Material elektronenmikroskopisch an folgenden Stellen lokalisieren: Sie sind zu-

nächst vereinzelt in dem feinfilamentären Material zu finden, das sich vor Beginn des Vesikulationsprozesses der apikalen Zellmembran auflegt. Mit zunehmender Einsenkung des Membranabschnittes in die Tiefe, werden sie ebenfalls mitgerissen und sind schließlich in den so entstandenen Vesikeln nachzuweisen. Eine weitere Lokalisation stellen die großen, elektronendichten Granula dar. Wegen der Dichte des Inhaltes ist die Darstellung jedoch besonders schwierig. Sie gelingt nur in Dünnschnitten bei hoher Auflösung. In seltenen Fällen konnten auch membranbegrenzte 1000-2000 Å große Vakuolen im basalen Teil der Zelle beobachtet werden, die ebenfalls Ferritin oder Thorium enthielten. In den Zellen des darunter liegenden Dottersackmesoderms lassen sich in fast allen Bildern trotz genauer Nachforschung keine Ferritin- oder Thorotrastgranula darstellen. Nur in drei Zellen konnten solche elektronendichten Partikel in kleinen membranbegrenzten Vakuolen hier mit genügender Sicherheit erfaßt werden.

Untersuchung mit fluoreszierenden Antikörpern:

30 Minuten nach Injektion von SwAHu/IgD und SwAHu/IgG stellt sich im Fluoreszenzmikroskop das Dottersackepithel leuchtend fluoreszierend, d. h. positiv dar. Bei genauerer Betrachtung und höherer Vergrößerung sind in diesem leuchtenden Epithelverband einzelne unterschiedlich große Granula auszumachen. Bei günstiger Schnittrichtung ist kein Zweifel, daß es sich bei diesen Granula um die beschriebenen großen elektronendichten Einschlüsse im apikalen Teil der Zelle handelt. Bemerkenswert ist hier noch ein weiterer Befund:

In einzelnen Geweben des Embryos läßt sich ebenfalls eine deutliche Fluoreszenz nachweisen. Besonders klar tritt dabei in den älteren Embryonen (Tag 14 + 4 1/2) die embryonale Leber hervor. Auch hier läßt sich bei höherer Vergrößerung eine feingranuläre Fluoreszenz neben einer weniger starken und homogenen nachweisen.

Diskussion

Bei der Betrachtung der elektronenmikroskopischen Bilder von der Keimanlage und bei einem Vergleich zwischen Dottersackepithelzelle und Trägerzellen fällt in den frühen Stadien ein ausgeprägter Differenzierungsunterschied ins Auge. Während die Zellen des Trägers ein Überwiegen der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes zeigen, keine Oberflächendifferenzierungen aufweisen und im Cytoplasma vorwiegend freie Ribosomen enthalten, also völlig undifferenziert sind (Birbeck and Mercer, 1961), weisen sowohl die visceralen als auch die parietalen Dottersackepithelzellen deutliche Anzeichen einer hohen Differenzierungsstufe auf.

Sie sind klar polar gegliedert: Basal sitzen sie einer angedeuteten Basalmembran auf, lateral zeigen sie ein deutliches Adhäsionsverhalten und am Apex sind sie durch Fortsatzbildungen und Vesikulationsvorgänge charakterisiert. Das rauhe endoplasmatische Reticulum und ein gut ausgeprägter Golgi-Apparat sind ebenfalls als Zeichen eines hohen Differenzierungsgrades zu werten. Das ausgeprägte Adhäsionsverhalten der Dottersackepithelzellen im apikalen Teil ("close contacts und zonulae occludentes") läßt bereits

einige Permeabilitätseigenschaften dieser Zellschicht vermuten. Die kontinuierliche Abdichtung des Interzellularspaltes durch die spezialisierten Kontakte verhindert einen freien, nicht zellulär kontrollierten Flüssigkeits- und Substanztransport in dem Interzellularspalt (Farquhar and Palade, 1963).

Wenn auch Wasser und kleine Moleküle sich möglicherweise hier noch in dem stark verengten Raum bewegen können, haben sie doch einen derartig starken, räumlichen Kontakt mit der Zellmembran, daß ihr Verhalten stark beeinflußt werden kann. Größere Moleküle können überhaupt nicht in diesen Spalt zwischen den Zellen eintreten. Man muß deshalb postulieren, daß ein großer, wenn nicht der überwiegende Teil der an das Dottersackepithel anströmenden Flüssigkeiten und Stoffe nicht interzellulär sondern transzellulär embryonales Gewebe erreicht.

Zwischen Mutter und Embryo ist also bis zum Tag 12 das viscerale Dottersackepithel und von diesem Zeitpunkt an Dottersackepithel und Placenta als Permeabilitätsbarriere geschaltet.

Der früh erreichte und ausgeprägte Differenzierungsgrad der visceralen Dottersackepithelzellen drückt, wenn man eine Übereinstimmung von Morphologie und Funktion postuliert, eine frühe funktionelle Beanspruchung aus. Diese Ansicht wird auch durch die tatsächlich existierenden, funktionellen Verhältnisse gestützt. Diese, den Embryo umhüllende Zellschicht spielt bei der Ernährung bereits des frühen Keimes eine ausschlaggebende Rolle.

Die in der Einleitung bereits näher beschriebenen Ernäh-

rungsverhältnisse bei den Rodentia zwingen dazu, dem Dottersackepithel anders als beim Menschen eine wesentliche Bedeutung zuzumessen (Everett, 1933; Deren et al., 1966; Padykula et al., 1966; Merker und Villegas, 1970). Das morphologische Bild mit den Mikrovilli, der starken Vesikulationsaktivität, den Phagosomen, den Phagolysosomen und dem Golgi-Apparat spricht dafür, daß ein großer Teil der Funktionen über ein Vesikulations- oder Phagozytose-System durchgeführt wird. Um diese Aussage abzusichern, ist es natürlich notwendig, die Einstülpungsvorgänge, die Vesikel und die dunklen Granula in den Zellen als Strukturen zu definieren, die mit solchen Vorgängen verknüpft sind. Das läßt sich an den Präparaten, die mit Ferritin oder Thorotrast bzw. mit fluoreszierenden Antikörpern behandelt wurden, deutlich ablesen. Diese Substanzen lassen sich elektronenmikroskopisch bzw. fluoreszenzoptisch sicher in den großen, dichten Granula und in den kleineren Endocytose-Vesikeln nachweisen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, daß sowohl in den kleinen als auch in den großen elektronendichten Granula eine Aktivität saurer Phosphatase vorkommt (Hard, 1946; Christie, 1967; Spors, 1967). Es sind damit die drei Befunde vorhanden, die eine Definition der Phagozytoseaktivität erlauben (siehe auch Novikoff, 1961, 1962, 1964; Merker, 1965; De Duve, 1966):

1. Vesikel bzw. Einschlüsse
2. Nachweis der aufgenommenen Substanzen
3. Aktivität saurer Phosphatasen.

Auf dieser Grundlage kann man von der Tätigkeit des visceralen Dottersackepithels folgendes funktionelle Bild entwerfen (Merker und Villegas, 1970):

Vom periembryonalen Sinus aus fluten mütterliches Blut und die sog. histiotrophe Flüssigkeit an die Reichertsche Membran heran. Entsprechend der Porenweite dieses Maschengitters penetrieren Moleküle und Partikel bis zu einer Größe von 200 Å, also praktisch alle Bestandteile des Blutes bis auf die Zellen.
Aus dem Dottersacklumen werden sie dann vom visceralen Dottersackepithel durch Vesikulation aufgenommen. Die dabei entstehenden Vesikel fließen zu immer größeren Hohlräumen zusammen (Phagosomen), deren Inhalt sich schließlich zunehmend zu den typischen großen, elektronendichten Einschlüssen verdichtet. Gleichzeitig schütten die vom rauhen endoplasmatischen Reticulum gebildeten, im Golgi-Apparat abgepackten und dann in den Zellapex gewanderten primären Lysosomen ihren Inhalt - die lysosomalen hydrolytischen Enzyme - in die Hohlräume der Phagosomen aus. Es sind damit Phagolysosomen entstanden, deren Inhalt abgebaut wird. Die entstehenden Bruchstücke können nun auf zwei Wegen embryonales Gewebe erreichen: Einmal können sie an die Zellbasis abgegeben werden und erreichen hier extraembryonales Mesoderm, das kontinuierlich über interzelluläre Räume und später dann über Kapillaren (ab Tag 10) mit embryonalem Gewebe in Verbindung steht. Oder aber der Weg geht über das Dottersacklumen, der allerdings nur bis zum Tag 10 sinnvoll ist. Die Bruchstücke müßten dann

apikal ausgeschleust werden und könnten bis zum Tage 10 embryonales Entoderm an der Spitze des Trägers direkt erreichen. Nach dieser Vorstellung würde also der lysosomale Apparat des visceralen Dottersackepithels eine zentrale Stellung bei der Ernährung des frühen Embryos einnehmen, indem er großmolekulare und nicht diffusible Substanzen abbaut und sie in brauchbarer Form dem Keim zur Verfügung stellt. Diese Vorstellung konnte auch von Beck (1970) und Lloyd (1970) und später dann von vielen anderen Autoren experimentell abgesichert werden.
Blockiert man bei der Ratte in den ersten 10 Tagen die Lysosomen, bzw. inaktiviert ihre Enzyme z. B. durch Trypanblau, so kommt es zu Ernährungsstörungen des Keimes und in der Folge davon zu Mißbildungen, Resorptionen und anderen embryotoxischen Phänomenen.

Die Wirkung dieser Substanzen ist streng zeitabhängig; ungefähr ab Tag 12 lassen sich solche Effekte nicht mehr hervorrufen. Dieses zeitabhängige Verhalten ist verständlich, da zu diesem Zeitpunkt die Placenta die Ernährung des Embryos mit einem völlig anderen Permeabilitätsmechanismus übernimmt.
Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß das einschichtige viscerale Dottersackepithel das ernährende Organ des frühen Embryos ist. Bei der Diskussion der Funktion des lysosomalen Apparates muß die Frage gestellt werden, wie weit die aufgenommenen Substanzen abgebaut werden und ob es gewisse Unterschiede bei den einzelnen Substanzgruppen gibt. Hier eröffnen nun die Untersuchungen mit elektronendichten

Substanzen und mit fluoreszierenden Antikörpern neue Deutungsmöglichkeiten. Zweifellos muß man davon ausgehen, daß bestimmte Substanzen unverändert oder fast unverändert die Barriere des visceralen Dottersackepithels überwinden können und embryonales Gewebe erreichen. Granuläre bzw. vesikuläre Einschlüsse, die mit beiden Methoden in embryonalen Zellen nachgewiesen werden können, scheinen darauf hinzuweisen, daß hier an Ort und Stelle ebenfalls noch ein Abbau möglich ist. Untersuchungen haben darüber hinaus einen interessanten Aspekt dieses Phänomens geliefert. Danach wäre ein ungehinderter Transport von Proteinen durch das Dottersackepithel notwendig, um die sehr unreif geborene Ratte, deren Immunsystem erst sehr spät reift, postnatal z. B. mit Antikörpern und anderen essentiellen Proteinen zu versorgen (Brambell, 1948, 1950, 1951a, 1954, Brambell and Halliday, 1956; Hemmings, 1958; Barnes, 1959; Anderson and Leissring, 1961; Padykula et al, 1966; King and Enders, 1970). Diese Möglichkeit einer Durchschleusung von Proteinen über Vesikulationsvorgänge durch Zellen ohne Abbau läßt sich mit den Verhältnissen im Endteil des Dünndarms von Säugetieren während der Stillperiode vergleichen (Merker, 1969). Auch hier permeieren Proteine der Milch, besonders Antikörper unverändert das Darmepithel auf dem Wege über eine Endocytose und Phagosomenbildung, ohne lysosomal abgebaut zu werden. Unter diesem Aspekt ist die Existenz des visceralen Dottersackepithels als äußere Schicht bis zum Ende der Schwangerschaft außerordentlich interessant. Während z. B. beim Menschen die Umschaltung der verschiedenen

Ernährungsphasen sehr abrupt erfolgt, und länger dauernde Überlappungen z. B.zwischen histiotropher und placentarer Ernährung nicht bekannt sind, existieren damit bei den Rodentia zwei Ernährungssysteme während der gesamten Tragezeit parallel nebeneinander. Das elektronenmikroskopische Bild von Dottersackepithelien zeigt noch lange nach Funktionsbeginn der Placenta eindeutig eine voll funktionierende Epithelschicht. Mikrovilli sind ebenso vorhanden, wie Vesikulationsvorgänge, elektronendichte Granula, Golgi-Apparate und rauhes, endoplasmatisches Reticulum. Es muß also angenommen werden, daß im Bereich dieses Dottersackepithels bis zum Ende der Schwangerschaft ein Stofftransport Mutter-Keim erfolgt. Die kleinmolekularen Substanzen, die diffusibel sind und damit die Placentabarriere leicht überwinden können, dürften schneller via Placenta mit ihrer guten Durchblutung transportiert werden. Die Einschleusung großer Moleküle könnte dann über den Dottersack vor sich gehen. Die Existenz eines derartigen Mechanismus spricht für die Notwendigkeit einer Aufnahme von Proteinen auch in den späteren Schwangerschaftsphasen. Interessanterweise hat sich im antimesometralen Bereich, also an der placentafernen Seite des Keimes, ein eigenartiges räumliches Verhältnis zwischen Uterus- und Dottersackepithel gebildet. Nachdem zunächst im Verlaufe der Decidualisation das primäre Uteruslumen zusammengedrückt und unter Einschmelzung der Epithelien verschwunden ist, hat sich an der antimesometralen Seite ein neues Lumen sekundär gebildet. An manchen Stellen geht das mütterliche Bindegewebe zwischen Uterusepithel und visceralem Dottersack zugrunde.

Dann können sich die beiden Epithelschichten direkt nebeneinander legen.

Wenn man darüber hinaus bedenkt, daß das einschichtige Epithel des Uterus nach neueren Untersuchungen eine meßbare Synthese- und Sekretionsleistung vollbringt, wird die Frage nach der Zusammensetzung dieses Sekretes besonders wichtig (Beier et al., 1970).

Leider sind auf diesem Gebiet noch keine sicheren Informationen vorhanden, jedoch sprechen erste Untersuchungen in der Frühphase der Schwangerschaft vor und während der Nidation für ein hormongeprägtes Verhalten der Menge und Zusammensetzung des Uterussekretes. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, daß es auch nicht berechtigt ist, die Rattenplacenta mit der menschlichen Placenta zu vergleichen. Die Rattenplacenta besitzt - kurz ausgedrückt - kein Zottensystem, sondern das mütterliche Blut durchströmt ein labyrinthartiges Gewirr von Hohlräumen und Kanälen. Dieser Unterschied im Aufbau könnte natürlich auch ein Hinweis sein für einen Unterschied im Permeabilitätsverhalten. Das könnte bedeuten, daß eine notwendige Teilfunktion bei Rodentia von dem Dottersackepithel übernommen wird. Allgemein muß aber gesagt werden, daß die Unterschiede in der Ernährung und in der Morphologie der dabei beteiligten Gewebe einen direkten Vergleich zwischen Mensch und Laboratoriumstieren nicht zulassen.

Zweifellos ist ein Teil der Speziesunterschiede, die bei der Testung von Substanzen auf teratogene Wirkung so deutlich zum Ausdruck kommen, auf dieses abweichende Verhalten zurückzuführen. Bei der Deutung von Versuchsergeb-

nissen auf diesem Gebiet sollten die hier mitgeteilten Befunde und Überlegungen berücksichtigt werden.

Zusammenfassung

Das zur elektronenmikroskopischen Untersuchung verwendete Material wurde Rattenembryonen eines Wistarstammes (Paderborn, F W 69) entnommen. Wir benutzten darüber hinaus noch elektronendichte Substanzen und Fluoreszenzantikörper, deren Verhalten im Dottersackepithel nach Injektion in die Muttertiere beobachtet wurde. Das Dottersackepithel ist eine einschichtige, deutlich polar gegliederte Zellschicht. Basal sitzt sie einer Basalmembran auf, apikal trägt sie Mikrovilli und zeigt starke Vesikulationsvorgänge (Endocytose) mit Phagosomen, Phagolysosomen, primären Lysosomen, Golgi-Apparat und rauhem endoplasmatischen Reticulum. Die Interzellularräume sind durch Kontaktstellen ("close contacts, tight junction") abgesichert (Jollie, 1965). Aus den elektronenmikroskopischen Untersuchungen ergibt sich, daß das viscerale Dottersackepithel ein wichtiges Ernährungsorgan in der frühen Embryonalzeit ist.

Es nimmt aus dem mütterlichen Blut mit der Histiotrophe am apikalen Zellpol anströmende Substanzen mit Hilfe von Vesikulationsvorgängen in die Zelle auf. Die im rauhen endoplasmatischen Reticulum via Golgi-Apparat gebildeten lysosomalen Enzyme, bauen den Phagosomeninhalt ab und machen ihn damit für den Embryo nutzbar. Dieses Abbauprо-

dukt kann dann entweder wieder in das Dottersacklumen oder aber in den Dottersackkreislauf abgegeben werden. Darüber hinaus werden aber auch großmolekulare Substanzen, wie die Untersuchungen mit "Markern" und fluoreszierenden Proteinen zeigen, unverändert in das embryonale Gewebe durchgeschleust. Die Bedeutung dieser Eigenschaft wird im Hinblick auf die Wichtigkeit der Aufnahme mütterlicher Antikörper diskutiert. Vom Tag 10 an wird die Ernährung zugleich von dem jetzt entstehenden embryonalen Dottersackkreislauf mit übernommen. Etwa vom Tag 12 an verliert wiederum der Dottersackkreislauf an Bedeutung, da jetzt die entstehende Placenta seine Aufgabe übernimmt.

Dennoch bleibt das viscerale Dottersackepithel während der ganzen Schwangerschaft funktionstüchtig. Die Unterschiede im Ernährungsmodus zwischen Ratten-und Menschenkeim erklären teilweise auch die unterschiedliche teratogene Wirkung von Arzneimitteln.

Literatur
=========

Alden, R. H. Implantation of the rat egg. II. Alteration in osmophilie epithelial lipids of the rat uterus under normal and experimental conditions. Anat. Rec., 97: 1-20 (1947).

Andersen, J. B., and Petersen, C. B. A method of the determination of transplacental transmission of drugs. The distribution of Kanamycin in pregnant guinea-pigs. Acta-Pathol. Microbiol. Scand. 79, 204-208 (1971).

Anderson, J. W. The placental barrier to gamma-globulins in the rat. Am. J. Anat., 104: 403-430 (1959).

Anderson, J. W., and Leissring, J. C. The Transfer of Serum Proteins from Mother to Young in the Guinea Pig. II. Histochemistry of tissues involved in prenatal transfer. Am. J. Anat., 109: 157-174 (1961).

Asai, T. Zur Entwicklung und Histophysiologie des Dottersacks der Nager mit Entypy des Keimfeldes. Anat. Hefte, 51: 467-641 (1914).

Barnes, J. M. Antitoxin transfer from mother to foetus in the guinea-pig. J. Path. Bact., 77: 371-380 (1959).

Beck, F., Lloyd, J.B., and Griffiths, A. A histochemical and biochemical study of some aspects of placental function in the rat using maternal injection of horseradish peroxidase. J. Anat., 101: 461-478 (1967).

Beck, F. Embryonic Utilisation of histiotroph. In: 1. Symposium des SFB 29 (1970), im Druck.

Beier, H. M., Kühnel, W., and Petry, G. Uterine Secretion Proteins as Extrinsic Factors in Preimplantation Development. Advances in the Biosciences 6 Schering Symposium on Intrinsic and Extrinsic Factors in Early Mammalian Development (1970). Pergamon Press Vieweg.

Birbeck, M. C.,and Mercer, E. H. Cytology of cells which synthesize protein. Nature (Lond.) 189, 558 (1961).

Brambell, F.W.R., Hemmings, W.A., and Rowlands, W. T. The passage of antibodies from the maternal circulation into the embryo in rabbits. Proc. Roy. Soc., B 135, 390-403 (1948).

Brambell, F.W.R., Hemmings, W.A., Henderson, M.,and Rowlands, W.T. The selective admission of antibodies to the foetus by the yolk-sac splanchnopleur in rabbits. Proc. Roy. Soc., B 137, 239-252 (1950).

Brambell, F.W.R., Gwynneth, F.R.S., Hemmings, P., Hemmings, W.A., Henderson, M.,and Rowlands, W.T. The route by which antibodies enter the circulation after injection of immune serum into the exocoel of foetal rabbits. Proc. Roy. Soc., B 138, 188-195 (1951 a).

Brambell, F.W.R., and Hemmings, W.A. Active transport through embryonic membranes. Symp. Soc. exp. Biol. 8, 476-489 (1954).

Brambell, F.W.R., and Halliday, R. The route by which passive immunity is transmitted from mother to foetus in the rat. Proc. Roy. Soc., B 145, 170-178 (1956).

Bridgman, J. A morphological study of the development of the placenta of the rat. I. An outline of the development of the placenta of the white rat. J. morphol. 83: 61-85 (1948 a).

Bridgman, J. A morphological study of the development of the placenta of the rat. II. An histological and cytological study of the development of the chorio-allantoic placenta of the white rat. J. Morphol. 83: 195-223 (1948 b).

Carpenter, S. J., and Ferm, V. H. Uptake and storage of thorotrast by the rodent yolk sac placenta: An electron microscopic study. Am. J. Anat., 125: 429-456 (1969).

Christie, G. A. Comparative histochemical distribution of acid phosphatase, non-specific esterase, and ß-glucuronidase in the placenta and foetal membranes. Histochemie, 12: 189-207 (1967).

Dempsey, E. W. Electron microscopy of the visceral yolk-sac epithelium of the guinea-pig. Am. J. Anat., 93: 331-363 (1953).

Deren, J. J., Padykula, H.A., and Wilson, T. H. Development of structure and function in the mammalian yolk sac. II. Vitamin B_{12} uptake by rabbit yolk sacs. Develop. Biol., 13: 349-369 (1966).

Duve, C. de Lysosomes, a new group of cytoplasmic particles. in: Subcellular Particles, T. Hayashi, NY, Pergamon Press (1959), S. 128.

Duve, C. de — The lysosome concept. in: Lysosomes, A.V.S. de Reuck, M.P. Cameron, London, J. A. Churchill (1963), S. 1.

Duve, C. de — From cytases to lysosomes. Fed. Proceed., 23: 1045 (1964).

Duve, C. de, and Wattiaux R. — Functions of lysosomes. Ann. Rev. Physiol., 28: 435-507 (1966).

Enders, A.C., and Schlafke, S. — A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. Amer. J. Anat., 120: 185-226 (1967).

Everett, J. W. — Structure and function of the yolk-sac placenta in mus norvegicus albinus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., vol. 31, pp. 77-79 (1933).

Everett, J. W. — Morphological and physiological studies of the placenta in the albino rat. J. Exptl. Zool., 70: 243-285 (1935).

Farquahr, M.G.,and Palade, G. E. — Junctional complexes in various epithelia. J. Cell Biol., 17: 375-402 (1963).

Finn, C., and Mc Laren, A. — A study of early stages of implantation in mice. J. Reprod. Fertil., 13: 259-267 (1967).

Gould, B. S. — Collagen biosynthesis at the ribosomal level. In: Internat. Rev. Conn. Tissue Res., vol. 4, p. 35-67. ed. by D. A. Hall. New York-London: Acad. Press 1968.

Greenhouse, G., Pesetsky,I.,and Hamburgh, M. — The Effect of Teratogenic Doses of Trypan Blue on the Yolk Sac Placenta of the Mouse. A. Histological and Histochemical Study. J. Exp. Zool., 171: 343-358.

Hard, W. H. A histochemical and quantitative study of phosphatase in the placenta and fetal membranes of the guinea pig. Am. J. Anat., 78: 47-78 (1946).

Hemmings, W. A. Protein selection in the yolk-sac splanchnopleur of the rabbit: the distribution of isotope following injection of ^{131}I-labelled serum globulin into the uterine cavity. Proc. Roy. Soc., Series B., 145: 186-194 (1956).

Hemmings, W. A. Protein selection in the yolk-sac splanchnopleur of the rabbit: The total uptake estimated as loss from the uterus. Proc. Roy. Soc., Series B., 148: 76-83 (1958).

Huber, G. C. The development of the albino rat, mus norvegicus albinus. J. Morph., vol. 26, pp. 247-386 (1915).

Jolie, W. P. Changes in the fine structure of the parietal yolk sac. Amer. J. Anat., 122: 513-532 (1968).

Jollie, W.P.,and Triche, T.J. Ruthenium Labeling of Micropinocytotic Activity in the Rat Visceral Yolk-Sac Placenta. J. Ultrastructure Research 35, 541-553 (1971).

Jollie, W. P. Fine Structural Changes in the Junctional Zone of the Rat Placenta with Increasing Gestational Age. J. Ultrastructure Research, 12: 420-438 (1965).

Keibel, F. Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wanderratte (rattus norvegicus Erxleben). Verl. G. Fischer, Jena 1937.

King, B. F.,and Enders, A. C. Protein Absorption and Transport by the Guinea Pig Visceral Yolk Sac Placenta. Amer. J. Anat., 129, No. 3, November 1970.

King, B. F.,and Enders, A. C. Transport of horseradish peroxidase by the guinea pig visceral yolk sac. Anat. Rec., 166: 331 (abstract) (1970 a).

King, B. F.,and Enders, A. C. The fine structure of the guinea-pig visceral yolk sac placenta. Am. J. Anat., 127: 397-414 (1970 b).

Krzyzowska-Gruca, St., and Schiebler, T. H. Experimentelle Untersuchungen am Dottersackepithel der Ratte. Z. Zellforsch., 79: 157-171.

Lambson, R. O. An Electron Microscopic Visualization of Transport Across Rat Visceral Yolk Sac. Am. J. Anat., 118: 21-52 (1966).

Langman, J. Medizinische Embryologie. Georg Thieme Verlag. Stuttgart (1970).

Lehner, J. Dottersack der Weißen Maus. Anat. a Ergänzungsheft, 46: 182-186 (1914).

Leissring, J. C., and Anderson, J. W. The Transfer of Serum Proteins from Mother to Young in the Guinea Pig. I. Prenatal rates and routes. Amer. J. Anat., 109: 149-155 (1961).

Leissring, J. C., and Anderson, J. W. The Transfer of Serum Proteins from Mother to Young in the Guinea pig. III. Postnatal studies. Am. J. Anat., 109: 175-182 (1961).

Litwer, G. Über die Sekretion und Resorption in den Dottersackentodermzellen bei graviden weißen Mäusen. Z. Zellforsch., 8: 135-152 (1928).

Lloyd, J.B., and Beck, F. — Mechanismus of teratogenic action of trypan blue. In: Teratology ed. by A. Bertelli and L. Donati, p. 145-151. Amsterdam: Excerpta Med. Foundation (1969).

Lloyd, J. B. — Histiotrophic Nutrition. - A Target for 'Macromolecular' Teratogens in Rats. 1970, im Druck.

Luse, S. A. — The morphological manifestations of uptake of materials by the yolk sac of the pregnant rabbit. Macy Found. Conf. Gestation, 4: 115-142 (1957).

Mayersbach, H. — Zur Frage des Proteinüberganges von der Mutter zum Foeten. I. Befunde an Ratten am Ende der Schwangerschaft. Z. Zellforsch., 48: 479-504 (1958).

Merker, H. J. — Die Lysosomen, eine neue Zellorganellgruppe. Berliner Med., 15: 237 (1964).

Merker, H. J. — Struktur und Funktion der Lysosomen. Materia Med. Nordmark Nov. 1965, S. 684.

Merker, H. J. — Elektronenmikroskopische Morphologie der intestinalen Resorption. Verh. dtsch. Ges. Path., 53: 57-79 (1969).

Merker, H. J. und Villegas, H. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem des Stoffaustausches zwischen Mutter und Keim bei Rattenembryonen des Tages 7-10. Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 131: 325-346 (1970), Springer Verlag.

Midgley, A.R., and Sriram, J. — The histogenesis of basement membranes. J. Exp. Med., 117: 339-348 (1963).

Nebel, L., and Hamburgh, M. — Observations on the penetration and uptake of trypan blue in embryonic membra-

nes of the mouse.
Z. Zellforsch., 75: 129-137 (1966).

Neubert, D., Merker, H.-J., Köhler, E., Krowke, R., and Barrach, H. J. — Biochemical Aspects of Teratology. Advances in the Biosciences 6 Schering Symposium on Intrinsic and Extrinsic Factors in Early Mammalian Development (1970). Pergamon Press Vieweg.

Novikoff, A. B. — Lysosomes and related particles. in: The Cell, vol. 2, J. Brachet, E. Mirsky, N.Y., Academic Press (1961), S.423.

Novikoff, A.B.,and Essner, E. — Cytological studies on two functional hepatomas. Interrelations of endoplasmatic reticulum, Golgi-apparatus and lysosomes.
J. Cell. Biol., 15: 140 (1962).

Novikoff, A. B., Essner, E., and Quintana, N. — Golgi apparatus and lysosomes.
Fed. Proceed., 23: 1010 (1964).

Padykula, H. A., Deren, J.J., and Wilson, T. H. — Development of structure and function in the mammalian yolk sac. I. Developmental Morphology and Vitamin B_{12} Uptake of the Rat Yolk Sac.
Develop. Biol., 13: 311-348 (1966).

Pierce, G. B. — The development of basement membranes of the mouse embryos.
Develop. Biol., 13: 231-249 (1966).

Potts, D. M. — The ultrastructure of the implantation in the mouse.
J. Anat., 103: 77-90 (1968).

Reinius, S. — Light and electron microscopy of Reichert's membrane, endoderm and troph-ectoderm during early, egg implantation in the mouse.
J. Ultrastruct. Res., 12: 242-255 (1965).

Satow, Y., Okamoto, N., Fukazawa, K., Ikeda, T., Shimada, K.,and Imabashi, T. — Electron microscopic observation on the embryos of the 8th days of gestation in the rats. Hiroshima Journal of Medical Sciences, Vol. 15, No. 4, December 1966. HIJM 15-28.

Sobotta, J. — Die Entwicklung des Eies der Maus vom Schlusse der Furchungsperiode bis zum Auftreten der Amniosfalten. Arch. f. Mikr. Anat., Bd. 61, S. 274-330 (1903).

Sobotta, J. — Die Entwicklung des Eies der Maus vom ersten Auftreten des Mesoderms an bis zur Ausbildung der Embryonalanlage und dem Auftreten der Allantois. I. Die Keimblase. Arch. f. Mikr. Anat., Bd. 78, S. 271-352 (1911).

Spors, S. — Elektronenmikroskopischer Nachweis der sauren Phosphatase in den Siderosomen der Makrophagen der Rattenmilz. Berlin, FU, Med. Diss. v. 6. Juli 1967.

Starck, D. — Embryologie G. Thieme Verl. Stuttgart (1965).

Villegas, H.,and Merker, H. J. — Electron microscopic observations on cell surface and cell contact in the decidua of rats. I. Sympos. des Sonderforschungsbereiches 29, im Druck (1970).

Vollrath, L. — Über Bau und Funktionen von Basalmembranen. Dtsch. med. Wschr., 93: 360-365 (1968).

Wilson, J. G., Shepard,T.H.,and Gennard, J. F. — Studies on the site of teratogenic action of C^{14}-labeled trypan blue. Anat. Rec., 145: 300 (1963).

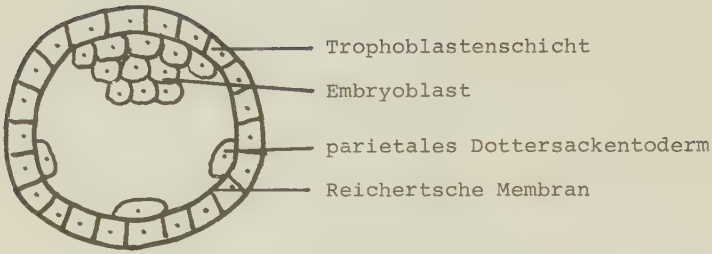
Wislocki, G. B. Experimental studies on fetal absorption. Contrib. Embryol. (Carnegie Inst., Wash., Publ. 274) 11, 47-60 (1920).

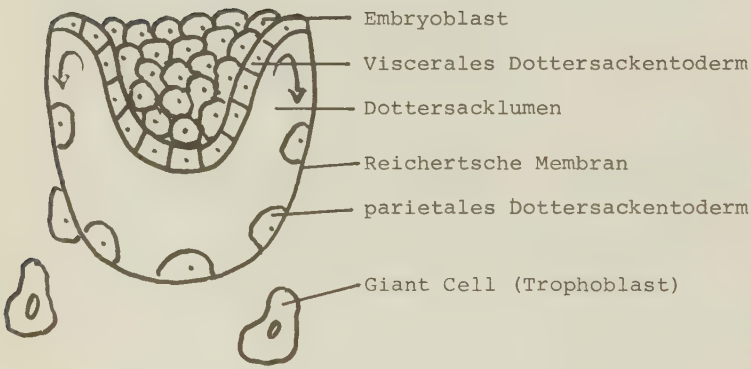
Wislocki, G. B. Further experimental studies on fetal absorption.
III. The behaviour of the fetal membranes ... Contrib. Embryol. Carn. Inst., Wash., 13: 89-102 (1921).

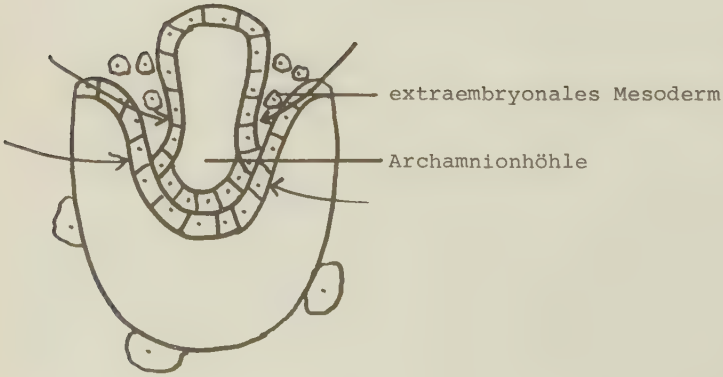
Wislocki, G. B., Deane, H. W., and Dempsey, E. W. Histochemistry of the rodent's placenta. Am. J. Anat., 78: 281-346 (1946).

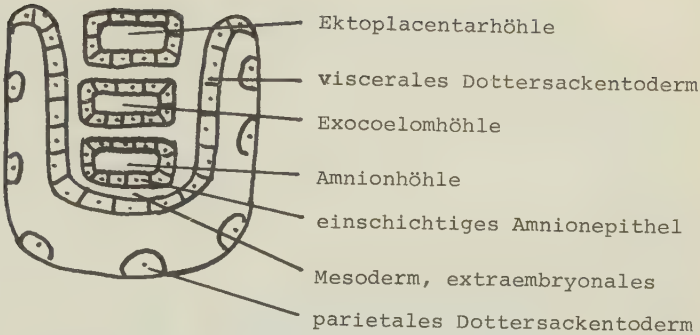
Wislocki, G. B., and Padykula, H. A. Reichert's membrane and the yolk sac of the rat investigated by histochemical means.
Am. J. Anat., 92: 117-151 (1953).

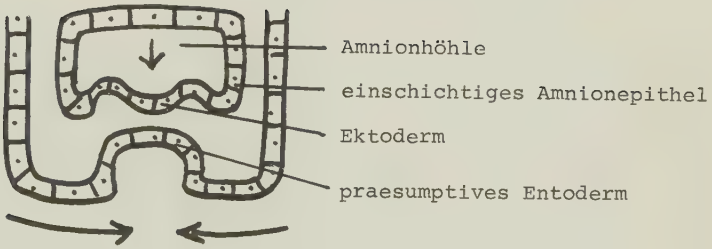
Wislocki, G. B., and Dempsey, E. W. Electron microscopy of the placenta of the rat.
Anat., Record 123, 33-63 (1955).


Trophoblastenschicht
Embryoblast
parietales Dottersackentoderm
Reichertsche Membran


Embryoblast
Viscerales Dottersackentoderm
Dottersacklumen
Reichertsche Membran
parietales Dottersackentoderm
Giant Cell (Trophoblast)


extraembryonales Mesoderm
Archamnionhöhle


Ektoplacentarhöhle
viscerales Dottersackentoderm
Exocoelomhöhle
Amnionhöhle
einschichtiges Amnionepithel
Mesoderm, extraembryonales
parietales Dottersackentoderm


Amnionhöhle
einschichtiges Amnionepithel
Ektoderm
praesumptives Entoderm

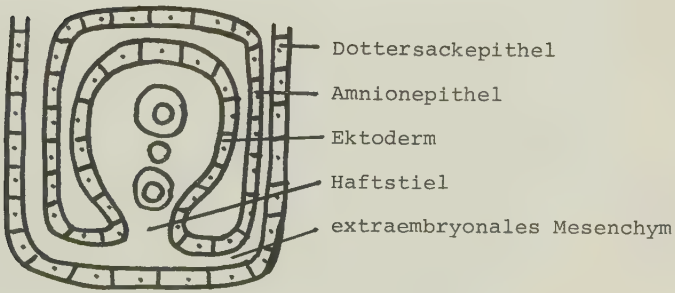

Dottersackepithel
Amnionepithel
Ektoderm
Haftstiel
extraembryonales Mesenchym

Abb. 1

Rattenembryo, Tag 9 + 12
Basisteil des Trägers.
Nach außen periembryonaler Sinus (PS), ein Fortsatz einer Trophoblastenzelle (✱) der Reichertschen Membran (R) aufsitzend. Parietales Dottersackepithel (PD), viscerales Dottersackepithel (VD) mit Mikrovilli ↗ und zahlreichen, elektronendichten Einschlüssen im apikalen Zellteil (✱). Im unteren Bildteil das Epithel der Archamnionhöhle (E). Grenze zwischen visceralem Dottersackepithel und Epithel der Archamnionhöhle (↗).
Vergrößerung: 1 : 7.000

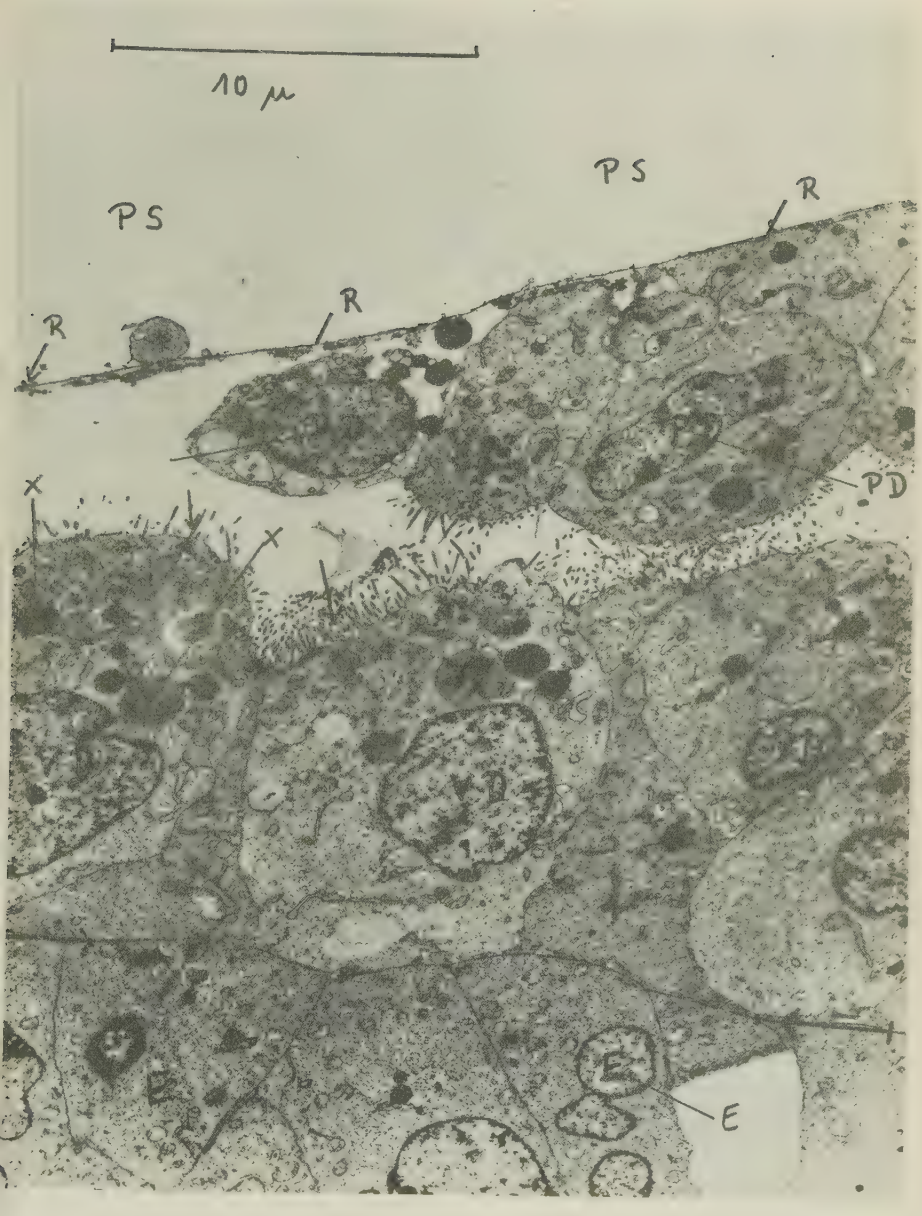
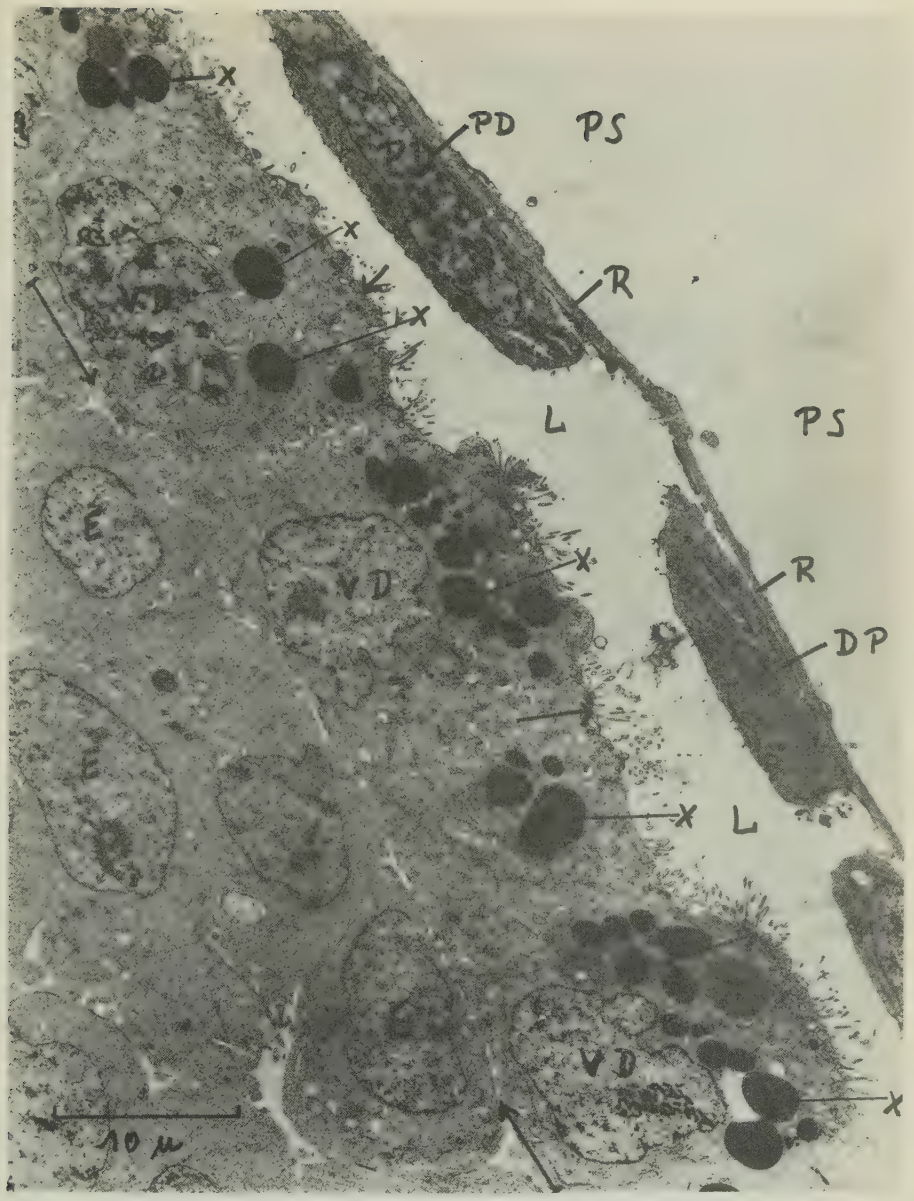

10 μ
PS
PS
R
R
R
X
X
PD
E
E
E

Abb. 2

Rattenembryo, Tag 8 + 12
Mittelteil des Trägers.
Periembryonaler Sinus (PS), Reichertsche Membran (R), Dottersacklumen (L), elektronendichte Einschlüsse (✱), Mikrovilli (↗), Epithel der Archamnionhöhle (E), viscerales Dottersackepithel (VD), parietales Dottersackepithel (PD), Grenze zwischen visceralem Dottersackepithel und Epithel der Archamnionhöhle (↗).
Vergrößerung: 1 : 3.500.


X
PD
PS
R
X
X
L
PS
E
VD
X
R
DP
X
L
E
VD
X
10 μ

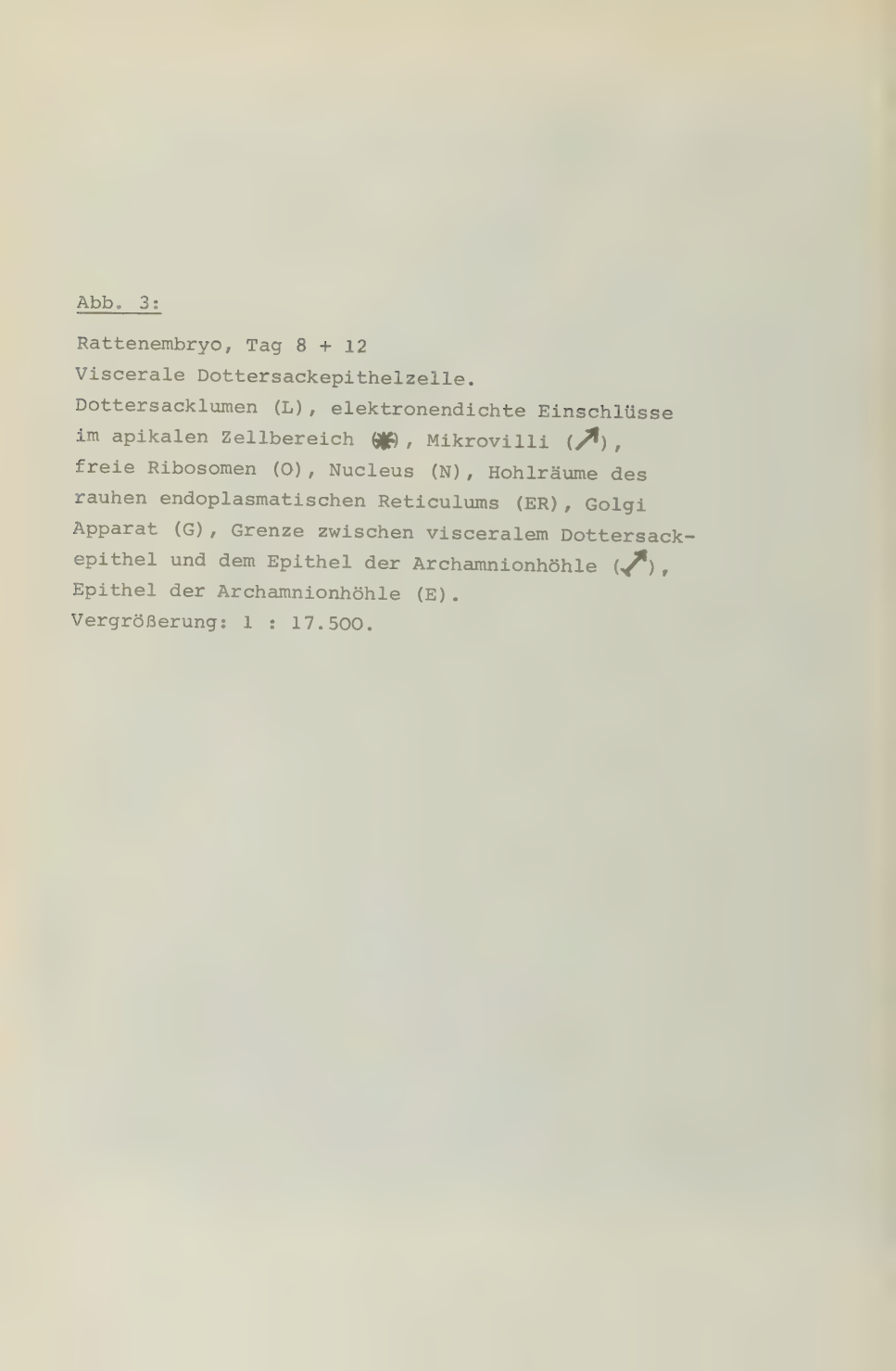


Abb. 3:

Rattenembryo, Tag 8 + 12
Viscerale Dottersackepithelzelle.
Dottersacklumen (L), elektronendichte Einschlüsse im apikalen Zellbereich (✱), Mikrovilli (↗), freie Ribosomen (O), Nucleus (N), Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Reticulums (ER), Golgi Apparat (G), Grenze zwischen visceralem Dottersackepithel und dem Epithel der Archamnionhöhle (↗), Epithel der Archamnionhöhle (E).
Vergrößerung: 1 : 17.500.

1 μ
L
L
N

Abb. 4

Rattenembryo des Schwangerschaftstages 8 + 12
Höhere Vergrößerung des apikalen Zellteils einer visceralen Dottersackepithelzelle mit Mikrovilli (MV), Vesikulationsvorgängen (↗), bereits abgeschnürten Vesikulationsbläschen (x); feinfilamentärer Belag auf der Zellmembran (↗), kleine hantelförmige, elektronendichte Einschlüsse (↗) sowie große, homogen-dichte Einschlüsse (✱).
Nucleus (N), Dottersacklumen (L).
Vergrößerung: 1 : 38.000.

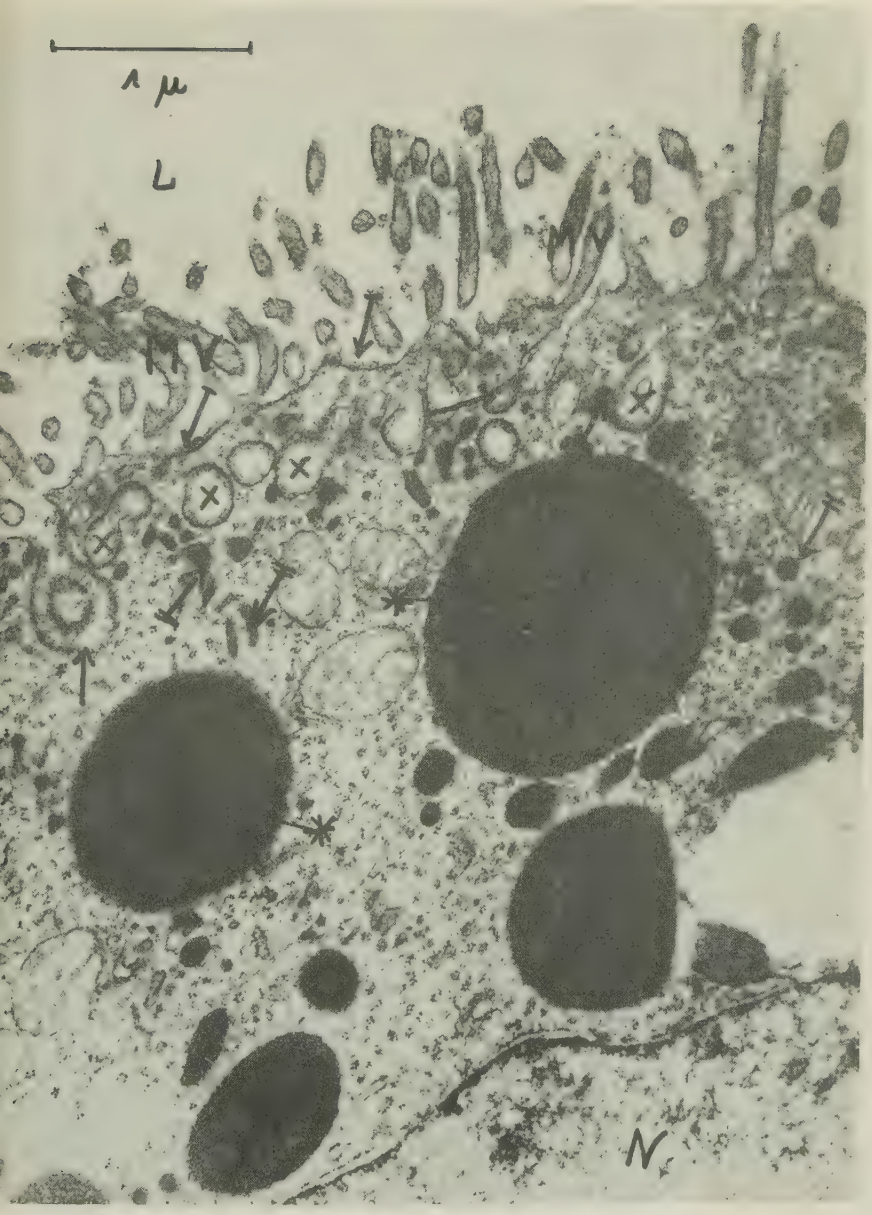

1 μ
L
N

Abb. 5

Wie Abb. 4.
Hohe Vergrößerung eines Kontaktes zwischen drei Zellen mit zonulae occludentes (↗), close contacts (↗) und normal weitem Interzellularspalt (↗). Freie Ribosomen (O), Mitochondrien (M), Dottersacklumen (L).
Vergrößerung: 1 : 88.000.

M
M
L
L

Abb. 6

Rattenembryo des Schwangerschaftstages 19
Dottersackepithel auf einem großen Dottersack-
gefäß (BG) sitzend. Mikrovilli (MV), Nucleus
(N). Im apikalen Teil große Einschlüsse unter-
schiedlicher Elektronendichte (x). Dottersack-
lumen (L) bzw. nach Platzen der Reichertschen
Membran bereits mütterliche Hohlräume. Dotter-
sackgefäßepithel (E).
Vergrößerung: 1 : 7.000.

MV
X
L
MV
X
E
N
E
MV
BG
E
BG
10 μ

Abb. 7

Rattenembryo, Tag 11 + 4
120 Min. nach Injektion von 0,5 ml Ferritin in die Schwanzvene des Muttertieres.
Mikrovilli des Visceralen Dottersackepithels mit einzelnen elektronendichten Granula (↗).
Vergrößerung: 1 : 73.000.

Abb. 8

Rattenembryo: Tag 11 + 6
120 Min. nach Injektion von 0,5 ml Thorotrast
in die Schwanzvene des Muttertieres.
Bereits einige elektronendichte Granula in
einem großen elektronendichten Einschluß (↗).
Am Rand einer Vakuole (✱) Anreicherung dieser
Granula.
Vergrößerung: 1 : 42.000.

1 μ

Abb. 9 a

Rattenembryo, Tag 11 + 4
30 Min. nach Injektion von 1 ml SwAHu/IgG/FITC
in die Schwanzvene des Muttertieres.
Deutliche Fluoreszenz im Bereich des visceralen
Dottersackepithels (*). In den embryonalen
Strukturen, z. B. im Neuralepithel (↗) eben-
falls Fluoreszenz nachweisbar.

Abb. 9 b

Rattenembryo, Tag 14 + 4
30 Min. nach Injektion von 1 ml SwAHu/IgD/FITC
in die Schwanzvene des Muttertieres.
Deutliche Fluoreszenz im Bereich des visceralen
Dottersackepithels (*), aber auch im Bereich
extraembryonaler Blutinseln (↗).

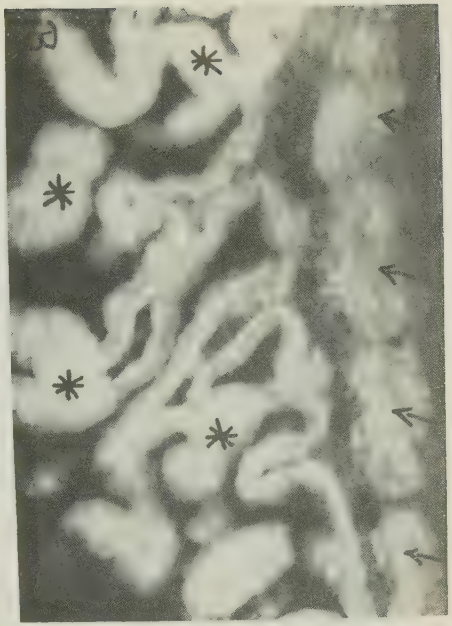
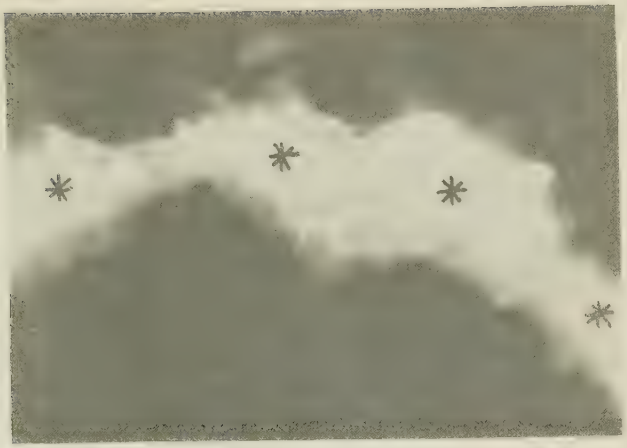


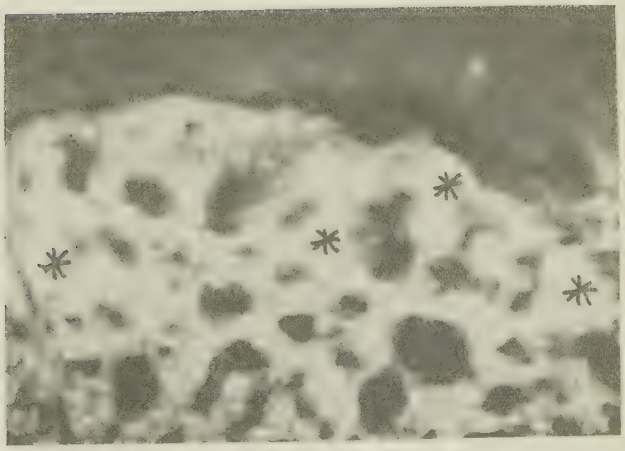
Abb. 10 a

Rattenembryo, Tag 11 + 4
30 Min. nach Injektion von 1 ml SwAHu/IgG/FITC
in die Schwanzvene des Muttertieres.
Granuläre Fluoreszenz im Bereich des visceralen
Dottersackepithels (*).

Abb. 10 b

Rattenembryo, Tag 14 + 4
30 Min. nach Injektion von 1 ml SwAHu/IgD/FITC
in die Schwanzvene des Muttertieres.
Deutliche Fluoreszenz auch in der embryonalen
Leber.





Herrn Prof. Dr. med. H. J. Merker danke ich für die Überlassung des Themas und seinen Mitarbeitern für ihre jederzeit hilfreiche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 15. 1. 1938 wurde ich als Tochter des damaligen Regierungsassessors Otto Kraatz und seiner Ehefrau Herta, geb. Wegner, in Berlin geboren.

In den ersten Jahren lebte ich in Neuruppin und besuchte dort die Grundschule. 1948 kamen wir nach Berlin zurück, wo ich nach dem Besuch zweier Grundschulen die Droste-Hülshoff-Schule in Zehlendorf bis zum Abitur im Frühjahr 1958 besuchte.

Nach 4 Semestern Rechtswissenschaft studierte ich das erste Semester Humanmedizin an der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz. Die folgenden Semester studierte ich bis zum medizinischen Staatsexamen im Herbst 1967 an der Freien Universität Berlin. Anschließend leistete ich die Medizinalassistentenzeit an Berliner Krankenhäusern ab.

1967 Eheschließung. 1968 und 1970 Geburt unserer beiden Kinder.

Seit dem 1. 8. 1971 bin ich als wissenschaftliche Assistentin am Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin tätig.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin
- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31